

Abnormal joints (*abj*), une nouvelle mutation affectant les membres des têtards de *Xenopus laevis*

Anne DROIN

Station de Zoologie expérimentale,
Université de Genève,
154, route de Malagnou,
1224 Chêne-Bougeries, Suisse

Abnormal joints (abj) is a recessive lethal mutation affecting the limbs of the tadpoles of *Xenopus laevis*. It has been found in a family, the father of which was a male homozygous for the *periodic albino* mutation (a^p/a^p). The two genes, *abj* and a^p segregate independently. Matings effected between heterozygous individuals for *abj* and for the other two mutations affecting also the limbs, *polydactyly (pd)* and *abnormal limb (abl)* have shown that these three genes are not allelic.

The mutants' limbs are normally developed but abnormally oriented. The four limbs are affected but the posterior ones are more easily observed. In the majority of cases, the stylopodium is forming a right angle with the tail axis and a second one with the zeugopodium; there is no flexion between the zeugopodium and the autopodium. Sections of the pelvic girdle have shown that the insertion of the femur in the acetabulum is abnormal. One concludes provisionally that the deficiency may originate in the joints. The general development of the mutants is slower than that of the normal tadpoles; they all die during metamorphosis.

INTRODUCTION

Les mutations affectant les membres ne sont pas très fréquentes chez les Amphibiens en comparaison de toutes celles qui sont connues chez d'autres Vertébrés de laboratoire, notamment la poule (revue par ABBOT & WENDELL YEE, 1975) et la souris (revue par GREEN, 1975).

Chez les Urodèles, les mutations de l'Axolotl sont nombreuses (revue par ARMSTRONG, 1985) mais deux seulement affectent les pattes, *short toes* (HUMPHREY, 1967) et *hand lethal*



Bibliothèque Centrale Muséum



3 3001 00111580 6

Service : ANJHIN, Paris

(HUMPHREY & CHUNG, 1977). En outre, LAUTHIER (1971) a analysé les anomalies spontanées des membres postérieurs de Pleurodèles descendant d'une seule lignée et leur attribue une origine génétique probable.

Chez les Anoures, particulièrement chez *Rana*, ce sont les mutants de pigmentation qui ont été les plus étudiés (revues par BROWDER, 1975 pour *Rana pipiens* et par DUBOIS, 1979, pour les Grenouilles vertes du groupe *Rana kl. esculenta*). Dans ce dernier groupe, DUBOIS (1979) décrit plusieurs anomalies non héréditaires des membres dont l'anomalie P analysée par ROSTAND (1959).

Chez *Xenopus laevis*, parmi les mutations trouvées dans notre laboratoire, deux d'entre elles affectent les pattes, les mutations *polydactyly* (*pd*, UEHLINGER, 1969) et *abnormal limb* (*abl*, DROIN & FISCHBERG, 1980). Une troisième mutation a été découverte récemment qui provoque également une anomalie des membres des têtards mais dont le phénotype est différent des deux autres. C'est la mutation *abnormal joints*, récessive létale, dont le mode de transmission est décrit dans ce travail ainsi que le phénotype des têtards mutants.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des individus adultes, élevés en laboratoire, de la sous-espèce *Xenopus laevis laevis*, de type sauvage et albinos (HOPERSKAYA, 1975) sont à l'origine de cette analyse. L'accouplement, la ponte, le tri des oeufs et l'élevage des têtards ont été effectués selon l'usage dans notre laboratoire (DROIN & CHAVANE, 1976) et les stades de développement déterminés d'après la table de NIEUWKOOP & FABER (1956). La technique de coloration et d'éclaircissement au Bleu Victoria (MAHONEY, 1966) a été employée pour la mise en évidence des cartilages. Pour l'histologie générale, les têtards ont été fixés au Bouin et colorés à l'hémalun-éosine.

RÉSULTATS

GÉNÉTIQUE

Les têtards homozygotes mutants ont été trouvés dans la F2 d'une famille dont la mère était de type sauvage (+/+) et le père homozygote pour la mutation *periodic albinism* (a^p/a^p). Six individus hétérozygotes ont été identifiés dans la F1 et quatre dans la F2. Il n'a pas été possible de faire les croisements de retour entre les hétérozygotes de la F1 et leurs parents pour déterminer lequel des deux a introduit la mutation car ils étaient déjà morts lors de l'identification des mutants. On peut supposer cependant que la mutation vient du père albinos car de nombreux croisements avaient déjà été faits dans la famille de la mère sans que la mutation n'apparût.

Les croisements effectués entre les individus des F1 et F2 sont résumés dans le Tableau I (première série). 156 têtards homozygotes ont été obtenus sur un total de 707 têtards examinés provenant de sept croisements différents, soit 22,1%, un pourcentage mendélien récessif typique.

En outre, les croisements des individus de la F1, tous hétérozygotes pour le gène a^p , donnent régulièrement un quart de têtards homozygotes albinos. Ces derniers n'ont pas tou-

Tableau I. — Génétique de la mutation *abnormal joints* chez *Xenopus laevis*.

Série	Génotypes croisés	Nombre de croisements	Nombre de têtards				% et χ^2
			Total	Phénotypes			
				Normal	abj	a ^p	abj a ^p
I	+/+ × <i>abj</i> +	3	227	227	—	—	—
	<i>abj</i> + × <i>abj</i> +	7	707	551	156	—	22,1 % ($\chi^2=3,41$; P<0,05)
II	<i>abj</i> + a ^p + × <i>abj</i> + a ^p +	3	259	156	47	42	14 $\chi^2 = 1,99$ (P < 0,5)
III	<i>pd</i> + × <i>abj</i> +	1	91	91	—	—	—
	<i>abl</i> + × <i>abj</i> +	1	87	87	—	—	—

jours été conservés. Dans trois croisements, ils ont été élevés conjointement avec les autres têtards et dans ces cas, les ségrégations obtenues montrent que ces deux gènes, *abj* et *ap*, sont indépendants (ségrégation 9-3-3-1, Tableau I, deuxième série).

Finalement, deux croisements ont été effectués entre des animaux hétérozygotes pour les mutations *pd* (*pd*+) et *abl* (*abl*+) et hétérozygotes pour *abj* (*abj*+) . Ils n'ont donné aucun têtard mutant sur un total de respectivement 91 et 87 têtards, ce qui permet de conclure que ces trois gènes ne sont pas alléliques (Tableau I, troisième série).

DESCRIPTION DU PHÉNOTYPE

Un têtard mutant (en haut) et un normal (en bas) sont représentés dans la fig. 1; ils sont aux premiers stades de la métamorphose proprement dite (st. 58/59). La différence dans

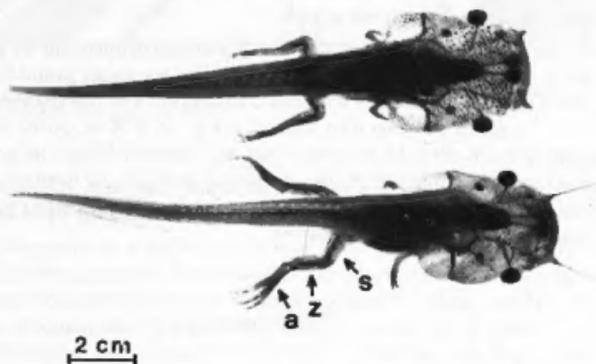


Fig. 1. — Têtards de *Xenopus laevis* au début de la métamorphose (st. 58/59) : mutant *abj* en haut et normal en bas ; s = stylopede ; z = zeugopode ; a = autopode.

l'orientation des pattes est nette; chez le normal, le stylopede de la patte postérieure forme un angle aigu par rapport à l'axe de la queue tandis que, chez le mutant, l'angle est droit, sinon obtus. Chez ce dernier, les autres éléments de la patte, zeugopode et autopode, forment également un angle droit par rapport au stylopede; ils sont continus l'un à l'autre, sans flexion, rendant la patte raide et immobile. Cette anomalie n'est décelable avec certitude qu'à partir du st. 55/56, moment de l'apparition des premières flexions des pattes chez les normaux; elles ne se produisent pas chez les mutants; jusque-là, les palettes sont semblables, droites et parallèles au corps. Dans les stades prométamorphiques, les observations ont été faites sur les pattes postérieures, libres, car les pattes antérieures se développent dans l'atrium et ne peuvent être observées facilement. Dès le st. 58, elles sont libérées, et on voit que leur position est également anormale; elles sont orientées latéro-ventralement au lieu de l'être latéralement mais bien articulées, probablement du fait de leur position repliée pendant le développement dans l'atrium.

Le têtard anormal de la fig. 1 représente la majorité des cas observés; on trouve cependant quelques variations dans ces anomalies. Le stylopede peut parfois former un angle obtus par rapport à l'axe de la queue et s'orienter antérieurement ou même antéro-dorsalement; ou bien, au contraire, l'angle de la patte peut être très aigu, parfois sans flexion entre le stylopede et le zeugopode, ce qui donne une patte complètement rigide et "collée" au corps.

En général, les anomalies des deux pattes sont symétriques mais on observe quelques cas d'asymétrie où l'on peut avoir une patte à angle droit et l'autre "collée". En outre, on peut trouver quelques rares cas de syndactylie, d'ectrodactylie ou de clinodactylie. D'autre part, certains têtards mutants ne possèdent pas de tentacules (voir fig. 1) mais aucune corrélation n'a été observée entre l'absence de tentacules et l'anomalie des pattes.

La coloration spécifique des cartilages de têtards *in toto* a montré que, dans la majorité des cas, tous les éléments squelettiques sont présents chez les mutants, mais ce sont les coupes histologiques qui ont le mieux révélé l'anomalie principale, l'insertion anormale du fémur dans l'acétabulum. La fig. 2 illustre un cas où cette insertion s'est faite en direction antérieure et non postérieure comme dans le cas normal. Cette anomalie articulaire se répercute sur les muscles qui sont également déformés et mal orientés. De même, dans la ceinture scapulaire, l'humérus est anormalement articulé.

A part les pattes, les têtards mutants sont morphologiquement et anatomiquement normaux, seule leur croissance est un peu retardée dès les stades prométamorphiques (st. 53/54). Lorsque les premiers têtards normaux commencent à se métamorphoser (st. 58, environ 40 jours), les futurs mutants n'en sont qu'aux st. 55 à 56 et, quand les premiers mutants atteignent le st. 58, 50% des normaux l'ont déjà dépassé. Malgré les précautions prises pour maintenir en vie les mutants le plus longtemps possible, ils meurent tous pendant la métamorphose, dès le st. 62/63 (stade intermédiaire où la tête et le corps ont acquis la forme adulte alors que la queue n'a que peu régressé).

DISCUSSION

Le mécanisme d'action d'un gène est un phénomène très complexe. Un phénotype mutant est le résultat d'une série d'interactions intra- et extracellulaires contrôlées par le gène.

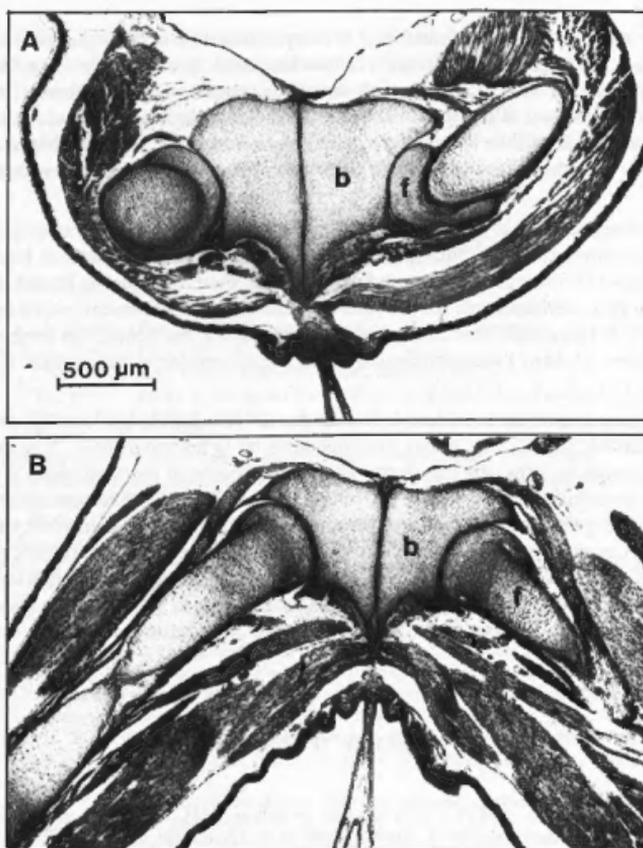


Fig. 2. - Coupes frontales des ceintures pelviennes de têtards, *abj* (A) et normal (B) ; b = bassin ; f = fémur (partie antérieure du corps en haut).

Ainsi, l'effet primaire du gène peut s'exprimer tôt dans le développement mais n'induire que plus tard d'autres effets produisant le phénotype anormal.

L'analyse sommaire du phénotype *abnormal joints* ne permet pas de déceler l'origine de l'anomalie. Le développement du membre est un processus très compliqué impliquant, dès la formation du bourgeon jusqu'à l'achèvement de la patte, toute une série d'interactions morphologiques, biochimiques et systémiques entre les tissus qui le composent (revue par HINCHLIFFE & JOHNSON, 1980); aussi l'action du gène mutant peut-elle interférer à n'importe quel niveau au cours de ce développement.

Cependant, dans le cas de la mutation *abj*, on peut supposer que les effets du gène se

manifestent relativement tardivement dans la morphogenèse de la patte puisque tous les éléments en sont normalement constitués. L'anomalie semble plutôt résider dans les articulations, principalement entre la ceinture et le stylopode mais aussi entre stylopode, zeugopode et autopode provoquant la rigidité de la patte. Mais l'articulation elle-même, cavité articulaire entourée d'une capsule fibreuse, est aussi le résultat d'une série de spécialisations de condensations mésodermiques au cours de laquelle les produits du gène peuvent exercer leurs effets.

De même, pendant la métamorphose, d'innombrables gènes interviennent qui régissent toutes les transformations morphologiques et les interactions physiologiques et biochimiques indispensables à la formation d'une grenouille normale. Pour expliquer la létalité des têtards mutants, on peut envisager que les produits du gène *abj*, non seulement interfèrent avec la formation de la patte mais pourraient également provoquer des déficiences majeures au niveau cellulaire, inhibant l'accomplissement de la métamorphose et provoquant la mort des têtards.

Une autre hypothèse considère la létalité des têtards comme une conséquence directe de l'anomalie des pattes. Aux stades intermédiaires de la métamorphose, il se produit un déséquilibre entre le corps déjà transformé et la queue encore en partie présente. Dans le cas des têtards normaux, cette instabilité est compensée par la position écartée des pattes postérieures tandis qu'elle ne l'est pas pour les têtards *abj*; les animaux se mettent sur le flanc, se retournent et meurent noyés. Ce phénomène avait déjà été observé dans le cas des mutants *polydactyles* et *abnormal limbs* où le petit nombre de têtards survivant à la métamorphose ne comprenait que ceux qui présentaient l'expression la plus faible de ces deux mutations. De nouvelles analyses et expériences seraient nécessaires pour mieux cerner cette nouvelle anomalie.

REMERCIEMENTS

Je remercie Mlle M. QUENTIN pour son aide technique, MM. A. SOLARO et A. PORTIANUCHA pour les photographies ainsi que Mlle Y. DEVELEY pour la dactylographie. Ce travail a été effectué grâce à une subvention du Fonds national suisse de la recherche scientifique attribuée au Prof. M. FISCHBERG (requête no 3.775.-0.80).

RÉSUMÉ

Abnormal joints (abj) est une mutation récessive létale affectant les pattes des têtards; elle a été trouvée dans une famille de *Xenopus laevis* dont le père était un mâle homozygote pour la mutation *periodic albinism (a^p/a^p)*. Les deux gènes, *abj* et *a^p* présentent une ségrégation indépendante. En outre, des croisements effectués entre des hétérozygotes *abj* et des hétérozygotes pour les deux autres mutations affectant également les pattes, *polydactyly (pd)* et *abnormal limb (abl)*, ont montré que ces trois gènes ne sont pas alléliques.

Les pattes des têtards mutants, normalement constituées, sont mal orientées. L'anomalie affecte les quatre pattes mais elle s'observe plus facilement sur les pattes postérieures.

Dans la majorité des cas, le stylopede forme un angle droit par rapport à l'axe de la queue puis un second angle droit avec le zeugopode; en outre, il n'y a pas de flexion entre le zeugopode et l'autopode. Sur les coupes de ceinture pelvienne, on voit que l'insertion du fémur dans l'acétabulum est anormale; on en conclut provisoirement que l'anomalie se situe au niveau des articulations. Le développement général des mutants est un peu plus lent que celui des têtards normaux; ils meurent tous pendant la métamorphose.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABBOTT, U.K. & WENDEL YEE, G., 1975. - Avian genetics. In: R.C. KING (ed.), *Handbook of Genetics*, New York, Plenum Press, Vol. 4 : 151-200.
- ARMSTRONG, J.B., 1985. - The axolotl mutants. *Devel. Genetics*, 6 : 1-25.
- BROWDER, L.W., 1975. - Frogs of the genus *Rana*. In: R.C. KING (ed.), *Handbook of Genetics*, New York, Plenum Press, Vol. 4 : 19-33.
- DROIN, A. & CHAVANE, M.C., 1976. - A recessive semi-lethal mutation, "distended lungs" (d1) affecting the tadpoles of *Xenopus laevis*. *Acta Embryol. Morph. exper.*, 3 : 273-289.
- DROIN, A. & FISCHBERG, M., 1980. - Abnormal limbs (abl), a recessive mutation affecting the tadpoles of *Xenopus laevis*. *Experientia*, 36 : 1286-1287.
- DUBOIS, A., 1979. - Anomalies and mutations in natural populations of the *Rana esculenta* complex (Amphibia, Anura). *Mitt. Zool. Mus. Berl.*, 55 : 59-87, p. I.
- GREEN, M.C., 1975. - The laboratory mouse, *Mus musculus*. In: R.C. KING (ed.), *Handbook of Genetics*, New York, Plenum Press, Vol. 4 : 203-241.
- HINCHLIFFE, J.R. & JOHNSON, D.E., 1980. - *The development of the Vertebrate limb*. Oxford, Clarendon Press : 1-268.
- HOPERSKAYA, O.A., 1975. - The development of animals homozygous for a mutation causing periodic albinism (ap) in *Xenopus laevis*. *J. Embryol. exp. Morph.*, 34 : 253-264.
- HUMPHREY, R.R., 1967. - Genetic and experimental studies on a lethal trait (short toes) in the Mexican axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *J. exp. Zool.*, 164 : 281-296.
- HUMPHREY, R.R. & CHUNG, H.M., 1977. - Genetic and experimental studies on three associated mutant genes in the Mexican axolotl: st (for stasis), mi (for microphthalmic) and h (for hand lethal). *J. exp. Zool.*, 202 : 195-202.
- LAUTHIER, M., 1971. - Etude descriptive d'anomalies des membres postérieurs chez *Pleurodeles waltlii* Michah. *Ann. Embryol. Morph.*, 4 : 65-78.
- MAHONEY, R., 1966. - *Laboratory techniques in Zoology*. London, Butterworth : 1-340.
- NIEUWKOOP, P.D. & FABER, J., 1956. - *Normal table of Xenopus laevis (Daudin)*. Amsterdam, North Holland Publishing Co. : 1-252.
- ROSTAND, J., 1959. - L'anomalie P chez la grenouille verte (*Rana esculenta* L.). *Bull. biol. Fr. Bel.*, 93 : 7-15.
- UEHLINGER, V., 1969. - Une mutation récessive (pd) déterminant la polydactylie chez *Xenopus laevis* D (Batraciens Anoures). *J. Embryol. exp. Morph.*, 21 : 207-218.